

厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業
H27～29年度総合研究報告書

国際的な動向を踏まえた乳及び乳製品の試験法の研究

研究代表者 寺嶋 淳 岩手大学農学部
(前所属 国立医薬品食品衛生研究所
衛生微生物部)

研究要旨：

本研究では、乳等省令の別表二(七)乳等の試験法について欧米における乳及び乳製品の試験法に関して情報を収集し、乳等省令の試験法の該当部分との比較を行った。初年度に米国、欧州連合(以下、EUと略す)、オーストラリア及びニュージーランドにおける乳及び乳製品の試験法を検索した。国内の現状を把握するために実施した、国際酪農連盟日本国内委員会(Japanese National Committee of International Dairy Federation(JIDF))の理化学分析専門部会及び微生物・衛生専門部会委員を対象とした乳等省令の試験法に関するアンケート調査から、汎用されている分析法や分析機器による測定が可能となるような試験法の見直しを望む回答とともに国内法と国際法との不一致を指摘する意見もあり、現行の試験法は、現状に即した見直しや国際的なハーモナイズが必要であることが確認された。次年度からは、比較可能と考えられる項目について、米国(OMA法)及びEU(ISO法)における試験法と現行試験法をコラボレイティブスタディを含めて実施した。乳の乳脂肪分の測定値はOMA法、ISO法と比べて乳等省令法がわずかに高い値を示し、ばらつきは大きい結果となった。乳の全固形分の測定値はOMA法と比べて乳等省令法のばらつきが小さい結果となった。クリーム中の乳脂肪分の試験値はOMA法、ISO法と比べて乳等省令法がわずかに高い値を示し、ばらつきはOMA法、ISO法と同等の結果となった。脱脂粉乳の水分の測定値は乳等省令法がISO法より高くOMA法より低い結果となったが、ばらつきは乳等省令法が一番小さい結果となった。さらに、アイスクリーム類は、乳脂肪分の試験法をOMA法と比較し、測定値はOMA法と比べて乳等省令法が低く、室間再現相対標準偏差は乳等省令法が大きかった。濃縮乳・無糖練乳の全固形分は、乳等省令法、ISO法、OMA法の990.19(AOAC990.19)及び990.20(AOAC990.20)の4法を比較し、測定値はAOAC990.19及びAOAC990.20がほぼ同じ値で高く、次いでISO法、乳等省令法という順であった。室間再現相対標準偏差は、大きい順にISO法、乳等省令法とAOAC990.19、AOAC990.20となった。濃縮乳・無糖練乳の乳脂肪分の測定値はISO法、OMA法に比べて乳等省令法が低く、室間再現相対標準偏差はISO法、OMA法に比べて乳等省令法が大きかった。加糖練乳の全固形分はISO法と比較し、測定値はISO

法に比べて乳等省令法が高く、室間再現相対標準偏差は乳等省令法が大きかった。加糖練乳の乳脂肪分の測定値は ISO 法、OMA 法に比べて乳等省令法が低く、室間再現相対標準偏差は大きい順に乳等省令、ISO 法、OMA 法であった。

細菌数の直接個体鏡検法（ブリード法）において指定されているニューマン染色液が特定化学物質であるテトラクロロエタンを含むため、染色液の代替品が求められている。本研究では代替染色液として、ブロードハーストパーレイ染色液、その改良染色液である BPV 染色液（ベッセル【獣医環境衛生研究所】）およびブロードハーストパーレイ改良染色液（公益社団法人 北海道酪農検定検査協会生乳検査部）も併せて検討した。4 施設によるコラボレイティブスタディにより各染色液のニューマン染色液との同等性を検証した結果、いずれの染色液も同等性が確認されたことから、ブロードハーストパーレイ染色液およびその改良染色液はニューマン染色液の代替染色液として使用可能と示唆された。

研究分担者

岩崎 司 公益財団法人日本乳業技術協会 事業部
平井昭彦 東京都健康安全研究センター微生物部（平成 28、29 年度）

佐藤 渥子 森永乳業株式会社 品質保証部
須藤 朋子 雪印メグミルク株式会社 品質保証部 分析センター
佐々木 麻子 雪印メグミルク株式会社 品質保証部 分析センター
小林 信弘 雪印メグミルク株式会社 興部工場

研究協力者

五十君静信 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
吉川 光英 東京都健康安全研究センター 食品化学部 食品成分研究科
田中 孝 株式会社明治 品質科学研究所
横田 有生 株式会社明治 品質科学研究所
伊藤 晶子 株式会社明治 品質科学研究所
有働 久志 森永乳業株式会社 生産本部生産部
伊藤 和彦 森永乳業株式会社 品質保証部

盛田 彰太郎 よつ葉乳業株式会社 中央研究所
古賀野 邦博 江崎グリコ株式会社 マーケティング本部 商品開発研究所
坂口 光一 一般社団法人日本乳業協会 生産技術部
吉田 剛 公益財団法人日本乳業技術協会 事業部
佐川 未弥 公益財団法人日本乳業技術協会 事業部
丸田 陽洋 公益財団法人日本乳業技術協会 事業部
下島優香子 東京都健康安全研究センター

	－微生物部
井田美樹	東京都健康安全研究センター －微生物部
西野由香里	東京都健康安全研究センター －微生物部
福井理恵	東京都健康安全研究センター －微生物部
森田加奈	東京都健康安全研究センター －微生物部
岡田三弘	関東生乳販売農業協同組合 連合会生乳検査所
大嶋秀克	公益財団法人日本乳業技術 協会事業部技術開発課
内田雅之	公益社団法人北海道酪農検 定検査協会事業部生乳検査 部
小坂英次郎	公益社団法人北海道酪農検 定検査協会事業部生乳検査 部

A. 研究目的

本研究では、乳等省令における試験法に関連する情報収集と修正が必要と考えられる試験法について検討し、最適な試験法の策定の可能性も含めて、将来的な展望を示すことを目的とする。特に、海外の乳及び乳製品に関する試験法を規定する成分規格に関する情報を収集し、乳等省令と比較することで国際的にも対応可能な試験法の確立を目指す。

B. 研究方法

1. 海外における乳及び乳製品の成分規格及び試験法

乳等省令で定められる乳及び乳製品の成分規格に関して、米国、EU、オーストラリア及びニュージーランドにおける乳及

び乳製品の定義(範囲)、成分規格、試験項目等について情報収集を行った。なお、オーストラリアとニュージーランドについては同一の規格基準が適用されるため一体的に取り扱った。情報収集にあたっては、対象国・地域の関連法令やガイドラインを中心に検索を行った。具体的な情報源は以下のとおりである。

1-1 米国

< 法令 >

連邦規則集 Code of Federal Regulations (CFR)

Title21 Food and Drugs

CHAPTER I-FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES

SUBCHAPTER B-FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION

PART 131-MILK AND CREAM

PART 133-CHEESES AND RELATED CHEESE PRODUCTS

1-2 EU

< 法令 >

EU 規則 (Regulation)

Council Regulation (EC) No 1255/1999 as regards methods for the analysis and quality evaluation of milk and milk products

Commission Regulation (EC) No 273/2008 of 5 March 2008 laying down detailed rules for the application of Council Regulation (EC) No 1255/1999 as regards methods for the analysis and quality evaluation of milk and milk products

ANNEX I - PART A

ANNEX I - PART B

1-3 オーストラリア/ニュージーランド
<法令>

食品規格基準法典 (The Australia New Zealand Food Standards Code)

Australia New Zealand Food Standards Code

Chapter2 Food product standards

PSRT2.5 Dairy Products

Australia New Zealand Food Standards Code

Chapter1 General food standards

PART 1.6 Microbiological and Processing Requirements

Australia New Zealand Food Standards Code

Chapter4 Primary production standards

PART4.2

Standard 4.2.4 - Primary Production and Processing Standard for Dairy Products (Australia Only)

<ガイドライン>

Methods of Analysis for Food

User guide on Methods of Analysis for Food (July 2001)

2. 乳等省令で規定される乳及び乳製品の試験法に関するアンケート調査

乳業メーカーの技術者、大学や研究機関の専門家等で構成される、国際酪農連盟日本国内委員会 (Japanese National Committee of International Dairy Federation (JIDF)) の理化学分析専門部会員 12 名及び微生物・衛生専門部会委員 16 名を対象として、乳等省令 別表二(七) 乳等の成分規格の試験法について項目毎に自由記入形式により実施した。

3. 試験法の比較

牛乳、クリームにおける乳脂肪分、脱脂粉乳における水分、アイスクリーム類の乳脂肪分、濃縮乳・無糖練乳の乳固形分、濃縮乳・無糖練乳の乳脂肪分、加糖練乳の乳固形分、加糖練乳の乳脂肪分について、米国及びEUにおける乳及び乳製品の試験法について情報を整理し、比較を行った。

4. 乳児用調整粉乳および液状ミルクの規格基準

米国、EU、オーストラリア/ニュージーランドにおける乳児用調整粉乳および液状ミルクに関する規格基準について、情報収集を行った。具体的な情報源は以下のとおりである。

4-1 米国

<法令>

連邦規則集 Code of Federal Regulations (CFR)

Title21 Food and Drugs

CHAPTER I-FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES

SUBCHAPTER B-FOOD FOR HUMAN CONSUMPTION

PART 106 INFANT FORMULA REQUIREMENTS PERTAINING TO CURRENT GOOD MANUFACTURING PRACTICE, QUALITY CONTROL PROCEDURES, QUALITY FACTORS, RECORDS AND REPORTS, AND NOTIFICATIONS

PART 107 INFANT FORMULA

4-2 EU

<法令>

EU 規則 (Regulation)

Commission Directive 2006/141/EC on infant formulae and follow-on formulae and amending Directive 1999/21/EC

COMMISSION REGULATION (EC) No 1441/2007 of 5 December 2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs

4-3 オーストラリア/ニュージーランド <法令>

食品規格基準法典 (The Australia New Zealand Food Standards Code)

Australia New Zealand Food Standards Code

Chapter2 Food product standards
STANDARD 2.9.1 - INFANT FORMULA PRODUCTS

Australia New Zealand Food Standards Code

Chapter1 General food standards
PART 1.6 Microbiological and Processing Requirements

5. LL(long-life)ミルクの規格基準

米国、EU、オーストラリア/ニュージーランドにおけるLLミルクに関する規格基準について、情報収集を行った。具体的な情報源は以下のとおりである。

5-1 米国 <ガイドライン>

The Grade “A” Pasteurized Milk Ordinance (Grade “A” PMO), 2013 Revision

5-2 EU <法令>

EU 規則 (Regulation)
COMMISSION REGULATION (EC) No 1441/2007 of 5 December 2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs

5-3 オーストラリア/ニュージーランド <法令>

食品規格基準法典 (The Australia New Zealand Food Standards Code)

Australia New Zealand Food Standards Code

Chapter1 General food standards
PART 1.6 Microbiological and Processing Requirements

Australia New Zealand Food Standards Code

Chapter4 Primary production standards
PART4.2

Standard 4.2.4 - Primary Production and Processing Standard for Dairy Products (Australia Only)

6. プリード法に係る代替染色液の検討
検体として、2017年11月に関東地方の生乳販売農業協同組合連合会生乳検査所で検査した後に冷蔵で東京都健康安全研究センターに輸送された生乳2検体を供試した。染色液には、ニューマン染色液(N, 関東化学)、BPV染色液(B1, ベッセル【獣医環境衛生研究所】)、ブロードハーストパーレイ染色液(B2)、ブロードファーストパーレイ(武藤化学)、ブロードハースト・パーレイ改良染色液(B3, 公益社団法人北海道酪農検定検査協会生乳検査部)を使用し、以下の4施設において実施した。公益社団法人北海道酪農検定検査協会生乳検査部検査課、関東生乳販売農業協同組合連合会生乳検査所、公益財団法人日本乳業技術協会事業部技術開発課、東京都健康安全研究センター。

C. 研究結果

1. 海外における乳及び乳製品の成分規格及び試験法

1-1 米国

(1) 概要

米国では、保健福祉省食品医薬品局（FDA）、農務省食品安全検査局（USDS FSIS）および環境保護庁（EPA）の3つの政府機関が食品行政において主要な役割を担っている。FDAは、Federal Food, Drug, and Cosmetic Actに基づき、肉・肉製品と加工卵を除く全ての食品を管轄している。従って、乳および乳製品についてはFDAの所管となる。一方、肉・肉製品および加工卵については、FSISが所管するFederal Meat Inspection Act、Poultry Products Inspection Act、Egg Products Inspection Actが適用される。また、EPAはFederal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Actに基づき、農薬の登録や使用基準等を規定している。

米国のあらゆる連邦法はコード化されており、Code of Federal Regulations（CFR；連邦行政規則集）としてまとめられている。CFR title21はFDAが所管する法令を収載したものであり、その第1章B節に乳および乳製品を含む食品の成分規格が定められている。

(2) 乳および乳製品の成分規格

CFR Title21 CHAPTER 1 SUBCHAPTER B-FOOD FOR HUMAN CONSUMPTIONでは、それぞれの品目ごとに乳および乳製品の成分規格が定められている。Part131は乳およびクリーム（Milk and Cream）、Part133はチーズ及びチーズ製品（Cheese and Related cheese products）について、それぞれ乳脂肪分や無脂肪固形分、酸度、添加成分等の成分規格が定められている。同法令に記載されている「乳およびクリーム」には、牛乳、酸性乳、発酵乳、濃縮

乳、加糖練乳、脱脂粉乳、ビタミンA/D添加脱脂粉乳、無糖練乳、全脂粉乳、ドライクリーム、生クリーム、ライトクリーム、ライトホッピングクリーム、サワークリーム、自然発酵サワークリーム、エッグノッグ、ハーフ&ハーフ、ヨーグルト、低脂肪ヨーグルト、無脂肪ヨーグルトがある。また、「チーズ及びチーズ製品」については、「チェダーチーズやカッテージチーズなど72種類のチーズについてそれぞれの成分規格が規定されている。また、試験法については、それぞれの成分規格に対応した方法（OMA法）が記載されている。

乳の乳脂肪分の測定値はOMA法、ISO法と比べて乳等省令法がわずかに高い値を示し、ばらつきは大きい結果となった。乳の全固形分ではOMA法と比べて乳等省令法のばらつきが小さい結果となった。クリームの乳脂肪分ではOMA法、ISO法と比べて乳等省令法がわずかに高い値を示し、ばらつきはOMA法、ISO法と同等の結果となった。脱脂粉乳の水分の測定値は乳等省令法がISO法より高くOMA法より低い結果となったが、ばらつきは乳等省令法が一番小さい結果となった。

アイスクリーム類は、乳脂肪分の試験法をOMA法と比較し、測定値はOMA法と比べて乳等省令法が低く、室間再現相対標準偏差は乳等省令法が大きかった。濃縮乳・無糖練乳の全固形分は、乳等省令法、ISO法、OMA法の990.19(AOAC990.19)及び990.20(AOAC990.20)の4法を比較し、測定値はAOAC990.19及びAOAC990.20がほぼ同じ値で高く、次いでISO法、乳等省令法という順であった。室間再現相

対標準偏差は、大きい順に ISO 法、乳等省令法と AOAC990.19、AOAC990.20 となった。濃縮乳・無糖練乳の乳脂肪分の測定値は ISO 法、OMA 法に比べて乳等省令法が低く、室間再現相対標準偏差は ISO 法、OMA 法に比べて乳等省令法が大きかった。加糖練乳の全固形分は ISO 法と比較し、測定値は ISO 法に比べて乳等省令法が高く、室間再現相対標準偏差は乳等省令法が大きかった。加糖練乳の乳脂肪分の測定値は ISO 法、OMA 法に比べて乳等省令法が低く、室間再現相対標準偏差は大きい順に乳等省令、ISO 法、OMA 法であった。

ブリード法鏡検時の各種染色液の染色像のひかくでは、N は初心者でも安定した染色が可能であり、鏡検時に判別しやすい印象であった。B1、B3 は背景がピンク色、細菌および体細胞は青色に染色され、色が異なり判別しやすく、また色彩も判別しやすい印象であった。B2 は B1 と同じように背景と対象物の色が異なり判別しやすい一方、背景が濃く染まる場合があり、濃い部分では測定がしづらく、判別しにくい印象であった。コラボレイティブスタディにおける染色液 N、B1、B2、B3、施設 A、B、C、D、試料 1、2 の細菌数および体細胞数の結果では、4 施設の平均をとると、細菌数は試料 1 で N : 4.3×10^6 /ml、B1 : 3.0×10^6 /ml、B2 : 2.2×10^6 /ml、B3 : 3.4×10^6 /ml、試料 2 で N : 7.2×10^6 /ml、B1 : 4.9×10^6 /ml、B2 : 5.1×10^6 /ml、B3 : 6.3×10^6 /ml、体細胞数は、試料 1 で N : 5.9×10^5 /ml、B1 : 4.9×10^5 /ml、B2 : 5.2×10^5 /ml、B3 : 5.3×10^5 /ml、試料 2 で N : 2.7×10^5 /ml、B1 : 2.2×10^5 /ml、B2 :

2.4×10^5 /ml、B3 : 2.5×10^5 /ml となった。標準偏差を求めると、細菌数は試料 1 で 2.73×10^6 、試料 2 で 2.85×10^6 、体細胞数は試料 1 で 1.3×10^5 、試料 2 で 8.0×10^4 であった。同一試料でも標本により、また測定視野により、測定結果に誤差が生じると考えられた。

コラボレイティブスタディで得られた染色液 N による試料 1、2 の細菌数および体細胞数に標準偏差を誤差範囲として想定すると、染色液 N で得られる細菌数は、試料 1 では $1.6 \times 10^6 \sim 7.1 \times 10^6$ /ml、試料 2 では $4.3 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^7$ /ml、体細胞数は、試料 1 では $4.6 \times 10^5 \sim 7.2 \times 10^5$ /ml、試料 2 では $1.9 \times 10^5 \sim 3.5 \times 10^5$ /ml であると考えられた。B1、B2、B3 で得られた細菌数および体細胞数は試料 1、2 ともいずれもその範囲内に含まれ、染色液 N によって得られる数値と同等であると示唆された。

D. 考察

米国、EU、オーストラリア及びニュージーランドにおける乳及び乳製品の成分規格で規定されるそれぞれの国の試験法と乳等省令における試験法のうち、牛乳、クリーム及び脱脂粉乳について、米国（OMA 法）及び EU（ISO 法）における試験法と対応する現行試験法が明らかになったことから、これらの検体を当該試験法に供試した。

4 試験室で実施した乳の乳脂肪分および無脂乳固形分の試験では、原理的にまったく異なる試験法である、ゲルベル法（乳等省令法）と重量法（OMA 法及び ISO 法）を用いた試験法であることを反映した結果となった。すなわち、ばらつ

きの指標である室間再現相対標準偏差については、ISO 法、OMA 法が 0.4%、乳等省令法は 2.4%となり、乳等省令法の方がばらつきの大きい結果となった。これは、析出した脂肪柱についてゲルベル乳脂計の目盛りを直接目視で読み取る容量法である乳等省令法と、抽出した脂肪の重量を化学天びんで測定する重量法である ISO 法および OMA 法との原理の違いによる精度の差と考えられた。脂肪分の測定で海外の試験法が重量法を用いる中、容量法であるゲルベル法で国際的なハーモナイゼーションを考える場合には内容を精査し、試験の実施手順に関する詳細な記述も必要であろう。

乳の無脂乳固形分については、乳等省令法、OMA 法ともに全固形分を定量し、別に求めた乳脂肪分を差し引くことによって算出する方法であった。全固形分の定量法では、乳等省令法の方が、ばらつきが小さく、全固形分はわずかに高値になる傾向が見られた。これは、乳等省令法は乾燥機で乾燥させる前に予備乾燥を行う工程があり最終的な乾燥ムラが小さくなるものと考えられたが、OMA 法には予備乾燥の工程がなく、試料を直接乾燥機で乾燥させ乾燥物重量を定量するため、ばらつきが生じるものとかんがえられた。OMA990.20 において室間再現許容差は 0.118%であり、乳等省令法と OMA 法の測定値の差はその範囲内にあり、同等の結果が出せることができ、精度的にも乳等省令法が優れているという結果となった。また、X-Y プロットにおいても $R^2 > 0.999$ と非常に高い相関性が確認された。

クリームにおける乳脂肪分の試験法では、乳等省令法・ISO 法・OMA 法共通して原理的に同じ重量法であるものの、脂肪抽出を行う器具に違いがあり、乳等省令法には「リョーリツヒ管」が、ISO 法及び OMA 法には「マジョニア管」が規定されている。測定値の比較では、ISO 法と OMA 法は同等の結果となったが、乳等省令法は平均すると約 0.4%低値となる傾向がみられた。その原因については、抽出器具による抽出効率の違いや試験操作におけるロス等が考えられるが、ばらつきの指標である併行相対標準偏差には差が認められなかったことから、試験操作におけるロスよりも抽出器具による抽出効率の差が大きな要因となっていることが考えられた。また、X-Y プロットではいずれも $R^2 > 0.999$ と非常に高い相関性が確認された。本試験で使用する器具に関して、昨年度のアンケートでの意見もあったが、日本国内においてもレーゼ・ゴットリーブ法を実施する際にはマジョニア管を用いるのが一般的となっている現状があることから、日本国内の実状と国際的な整合性の両方の観点からマジョニア管も適用可能とすることが望ましいと考えられた。

脱脂粉乳における水分の試験法は、乳等省令が 98~100 の乾燥機内で乾燥を行う常圧乾燥法であるのに対し、ISO 法は 87 の乾燥機内において風量 33ml/min の条件で乾燥空気を通させながら 5 時間乾燥させるという試験法であり、OMA 法は 100 の乾燥機内において 100mmHg の減圧条件下で 5 時間乾燥させるという試験法である。測定値は

低い順に ISO 法、乳等省令法、OMA 法となったが、乾燥温度が 87 であることを考えると ISO 法が一番穏やかな条件下での乾燥であり、他と比べて低めの傾向が見られたものと考えられた。乳等省令法と OMA 法はどちらも乾燥温度は 100 であるが、OMA 法は減圧条件下での乾燥であり乳等省令法と比べて水分が蒸発しやすい条件であるため高めの傾向となったものと考えられた。ばらつきの指標である併行相対標準偏差は乳等省令法が一番小さい結果となったが、ISO 法は乳等省令法と比べて操作が煩雑であることや、OMA 法は試料採取量が少ないために相対的にばらつきやすいこと等が要因として考えられた。

さらに、ISO 法及び OMA 法における試験法について、アイスクリーム類の乳脂肪分、濃縮乳・無糖練乳の乳固形分、濃縮乳・無糖練乳の乳脂肪分、加糖練乳の乳固形分、加糖練乳の乳脂肪分の試験法を乳等省令の試験法と比較した。乳脂肪分の試験法として比較した乳等省令法及び OMA 法は、いずれも原理的には同じ重量法であるが、脂肪抽出を行う器具に違いがあり、乳等省令法には「レーリツヒ管」が、OMA 法には「マジョニア管」が規定されている。乳脂肪分の測定結果として乳等省令法は測定値が低く、試験所間で差が出やすいという傾向を示した。これは、レーリツヒ管とマジョニア管の形状の違いを反映しているものと考えられた。レーリツヒ管とマジョニア管は、どちらもガラス製の脂肪抽出器具であるが、その形状は大きく異なる。レーリツヒ管は、管の中央部付近にある側管

から溶媒層を回収する構造になっており、その構造上側管より下に位置する溶媒層はレーリツヒ管内に残してしまうことになる。一方、マジョニア管は溶媒層を最後まで回収できる構造になっている。マジョニア管に比べてレーリツヒ管がロスを生じてしまう形状であることが、乳等省令法が低値となった原因であると考えられた。

濃縮乳・無糖練乳の乳固形分の測定試験法の比較では、比較試験を行った乳等省令法、ISO 法、OMA990.19 及び OMA990.20 の 4 試験法はいずれも直接乾燥法であるが、試料採取方法や、測定操作に少しずつ違いがある。測定値の総平均値を比較した場合、AOAC990.19 と AOAC990.20 はいずれも 28.66%と同値であり、ISO 法は 28.54%、乳等省令法は 28.44%であった。ISO 法の反復精度は 0.50%、OMA 法の反復精度は AOAC990.19 が 0.013%、AOAC990.20 が 0.018%である。ばらつきについては、室間再現相対標準偏差は大きい順に ISO 法は 0.8%、乳等省令法と OMA990.19 は 0.5%、OMA990.20 は 0.3%であった。X-Y プロットは 4 法いずれの組み合わせにおいても $R^2 > 0.999$ と非常に高い相関性が確認された。

加糖練乳の全固形分について比較試験を行った乳等省令法と ISO 法は、いずれも原理的には同じ乾燥法であるが、乳等省令法は直接乾燥法であり、ISO 法は乾燥助剤法と呼ばれる方法である。

測定値の比較において、乳等省令法の総平均は 74.11% であり、ISO 法の 73.20%より固形分値として約 0.9%高値で

あった。ISO法の反復精度は0.6%である。乾燥助剤は、水分含量が高いことに加えて、糖質などの含量も比較的高い試料を効率的に乾燥させるために加えられており、約44%とショ糖を多く含む加糖練乳は、直接法である乳等省令法では乾燥が不完全な状態となっていることが考えられた。ばらつきについては、室間再現相対標準偏差の総平均は、乳等省令法は0.5%、ISO法は0.3%であった。X-Yプロットは $R^2=0.9351$ であり、非常に高い相関性が確認された。

ブリード法試験における代替染色液の候補として、コラボレイティブスタディにより、B1、B2、B3いずれの染色液においても、求められる細菌数および体細胞数は試料1、2ともいずれも標本のばらつきの範囲内に含まれ、染色液Nによって得られる数値と同等であると考えられた。

したがって、ブロードハーストパーレイ染色液、その改良染色液であるBPV染色液およびブロードハーストパーレイ改良染色液は、ニューマン染色液の代替染色液として使用可能と示唆された。

E. 結論

アンケート結果を参考に選定した代表的な品目の試験法について、海外の試験法との比較により、乳等省令法の精度や測定原理の違い等による測定結果の違いが確認され、改正について検討が必要な器具や操作法が明らかになった。

本研究では、乳等省令の成分規格に対応する海外の成分規格の試験法を整理し、該当する試験法を対象として比較試

験を実施したが、対応する成分規格がない品目も多く存在したことから、これらの品目の試験法の国際整合をどのように進めるか、また、乳等省令における成分規格と国際的に規定されている成分規格をどう整合させていくのかなど、今後、成分規格と規格試験法を考えていく上での課題も明らかとなった。

乳等省令で指定される染色液であるニューマン染色液の代替染色液として、ブロードハーストパーレイ染色液を検討した。ブロードハーストパーレイ染色液の市販品であるBPV染色液およびブロードハースト・パーレイ改良染色液についても併せてニューマン染色液との同等性を検証し、ニューマン染色液の代替染色液として使用可能と示唆された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

- ・下島優香子、井田美樹、西野由香里、福井理恵、黒田寿美代、大嶋秀克、品川邦汎、平井昭彦、貞升健志、寺嶋淳：生乳の直接個体鏡検法（ブリード法）における染色液の比較、第29回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会研究会、平成29年2月、甲府市
- ・国際酪農連盟日本国内委員会 理化学分析専門部会 / 添加物・汚染物質専門部会合同会議、平成29年7月18日、東京都
- ・一般社団法人日本乳業協会 生産技術委員会、平成29年8月30日、東京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし